第10卷 第1期 动物学研究 Vol. 10, No. 1
1989年2月 ZOOLOGICAL RESEARCH Feb., 1989

新线虫属三个种的核型比较研究（小杆目：斯氏线虫科）

王国汉 罗俊烈 王正询

（华南农业大学植保系） （广州师范学院生物系）

摘 要

以格氏线虫（NC513,85011）、苹果蠹蛾线虫（DD－136）及毛蚊线虫的幼胚、精巢及卵巢为材料，用地衣红染色，压片法制片，其染色体组型进行了研究。结果表明，三种线虫的染色体数目均为雌性 $2n=10$，雄性 $2n=9$。但它们的核型并不一致，可概括为以下公式：

格氏线虫(NC513,85011)：$2n=4m+6t$(♀)，$2n=4m+5t$(♂)

苹果蠹蛾线虫(DD－136)：$2n=8m+2t$(♀)，$2n=7m+2t$(♂)

毛蚊线虫 ：$2n=6m+4t$(♀)，$2n=5m+4t$(♂)

此外，本文还讨论了三种线虫的亲缘关系。

关键词：染色体组型，格氏线虫，苹果蠹蛾线虫，毛蚊线虫。

染色体组型分析已被广泛地作为系统分类的一种手段。关于昆虫病原线虫中斯氏线虫科Steinernematidae新线虫属*Neoaplectana*的染色体组型研究报道的尚少，1967年美国Poinar在研究苹果蠹蛾线虫DD-136的分类位置时，曾观察到它的染色体数目，雌性 $2n=10$，雄性 $2n=9$，但对其染色体组型没有进行研究。国内迄今未见到有关这方面的文章。本文对从国外引进的新线虫属三个种及从国内采集到的一个种的线虫的染色体组型进行了研究，以期作为昆虫病原线虫分类上的探讨，为分类与进化提供细胞遗传学上的依据。

材料和方法

材料：

1.格氏线虫*Neoaplectana glaseri* Steiner (NC513)

2.苹果蠹蛾线虫*Neoaplectana carpocapsae* Weiser (DD-136)

本文1987年10月26日收到，1988年2月2日修回。

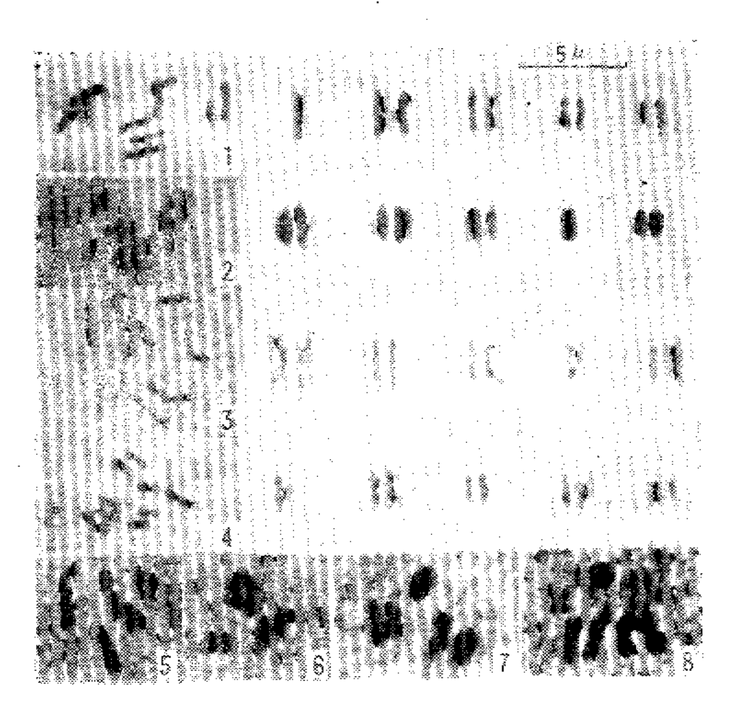
3.毛蚋线虫*Neoaplectana bibionis* Bovien

以上三个种均由广东昆虫研究所经澳大利亚引进繁殖保种后转赠。

4.格氏线虫*Neoaplectana glaseri* Steiner (85011) 为王国汉采自广东省海陵岛。

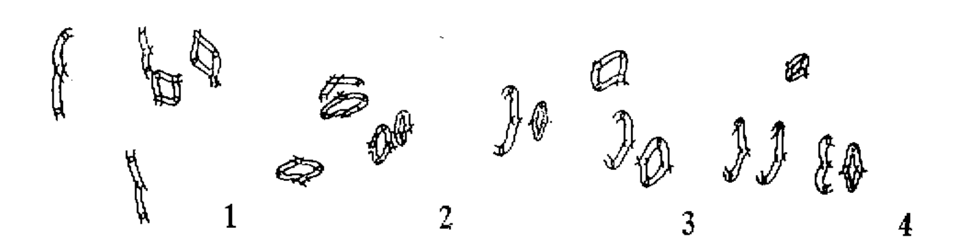
方法：

将从大蜡螟*Galleria mellonella*幼虫作寄主繁殖的线虫中选取生殖期的雌虫与雄虫，固定于Carnoy氏液（纯酒精6份，氯仿3份和冰醋酸1份）中24小时以上，然后移入70%酒精中保存备用。制片时，每块玻片上放2～3条已固定的线虫。先用氢氧化铁媒染30分钟，然后用吸水纸将媒染液吸去，放上丙酸地衣红染色约1小时30分钟，再将染色液吸去，加半滴丙酸地衣红，盖上盖玻片，并加轻微压力，在酒精灯火焰上过火数次即成。镜检时，选取其中分散良好、形态清晰的中期分裂相和减数分裂中期Ⅰ进行计数，显微照相、放大、测量及分析，然后参考Levan *et al*.,（1964）提出的标准对染色体进行命名和分类，并从每种虫中选取有代表性的雌、雄个体中期分裂相各一个制成染色体组型图进行分析研究。



图Ⅰ 新线虫属三个种的染色体照片

1.格氏线虫(NC513)染色体组型(♂) 2n=9
2.苹果蠹蛾线虫(DD—136)染色体组型(♂) 2n=9
3.毛蚋线虫染色体组型(♂) 2n=9
4.格氏线虫(85011)染色体组型(♂) 2n=9
5.格氏线虫(NC513)减数分裂终变期
6.苹果蠹蛾线虫减数分裂终变期
7.毛蚋线虫减数分裂中期Ⅰ
8.格氏线虫(85011)减数分裂中期Ⅰ



图Ⅱ　新线虫属三个种的染色体线条图（与图Ⅰ照片5～8对照）

1.格氏线虫减数分裂终变期线条图　　2.苹果蠹蛾线虫(DD—136)减数分裂终变期线条图
3.毛蚊线虫减数分裂中期Ⅰ线条图　　4.格氏线虫(85011)减数分裂中期Ⅰ线条图

结果与分析

在研究中对比较小的染色体着丝粒位置的决定，除了依据着丝粒含有异染色质、染色较深以外，还根据减数分裂中期Ⅰ、其双价染色体排列在赤道板上呈现的各种形状来决定，如中部着丝粒染色体往往呈O型，而端部着丝粒染色体呈杆状（见图Ⅰ、Ⅱ）。

共观察记录了格氏线虫(NC513和85011)、苹果蠹蛾线虫（DD—136）及毛蚊线虫等三个种四个材料各个线虫的雌、雄幼胚中期分裂相50～60个，卵母细胞的减数分裂前期Ⅰ和中期Ⅰ各50个，其染色体数目分别见表1、表2。

表1　新线虫属三个种的雌雄个体染色体数目

染色体数目	观察细胞数								百分率（%）							
	格式线虫				苹果蠹蛾线虫		毛蚊线虫		格式线虫				苹果蠹蛾线虫		毛蚊线虫	
	(NC513)		(85011)		(DD—136)				(NC513)		(85011)		(DD—136)			
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
10	52		39		51		40		86		78		85		80	
9	7	51	5	42	7	50	6	41	12	85	10	84	12	83	12	82
8		7		4		9		5		12		8		15		10
8以下	1		6		2		4		2		12		3		8	
7以下		2		4		1		4		3		8		2		6
合　计	60	60	50	50	60	60	50	50	100	100	100	100	100	100	100	100

表 2　　新线虫属三个种卵细胞减数分裂中期 I 的二价体数目

二价体染色体数目	观察细胞数				百分率（%）			
	格氏线虫		苹果蠹蛾线虫	毛蚊线虫	格氏线虫		苹果蠹蛾线虫	毛蚊线虫
	(NC513)	(85011)	(DD—136)		(NC513)	(85011)	(DD—136)	
5	47	45	47	46	94	90	94	92
4	2	3	2	2	4	6	4	4
3 以下	1	2	1	2	2	4	2	4
合　计	50	50	50	50	100	100	100	100

表 3　　新线虫属三个种染色体的相对长度，臂比指数和类型

染色体编号		1	2	3	4	5
格氏线虫 (NC513)	相对长度 ($\bar{x}\pm SD$)	24.55±0.56	21.3±0.24	19.4±0.15	18.4±0.33	16.1±0.42
	臂比指数 ($\bar{x}\pm SD$)	∞	1.76±0.70	∞	1.21±0.62	∞
	染色体类型	T	M	T	M	T
苹果蠹蛾线虫 (DD—136)	相对长度 ($\bar{x}\pm SD$)	24.5±0.65	21.6±0.32	19.9±0.31	17.8±0.45	16.3±0.46
	臂比指数 ($\bar{x}\pm SD$)	∞	1.33±0.57	1.21±0.41	1.45±0.38	1.12±0.36
	染色体类型	T	M	M	M	M
毛蚊线虫	相对长度 ($\bar{x}\pm SD$)	23.8±0.42	21.8±0.33	20.2±0.25	18.20±0.42	16.0±0.53
	臂比指数 ($\bar{x}\pm SD$)	∞	1.25±0.39	1.25±0.39	1.3±0.30	1.05±0.20
	染色体类型	T	T	M	M	M
格氏线虫 (85011)	相对长度 ($\bar{x}\pm SD$	23.08±0.34	22.13±0.15	19.42±0.31	18.04±0.24	17.34±0.44
	臂比指数 ($\bar{x}\pm SD$)	∞	1.25±0.41	∞	1.5±0.46	∞
	染色体类型	T	M	T	M	T

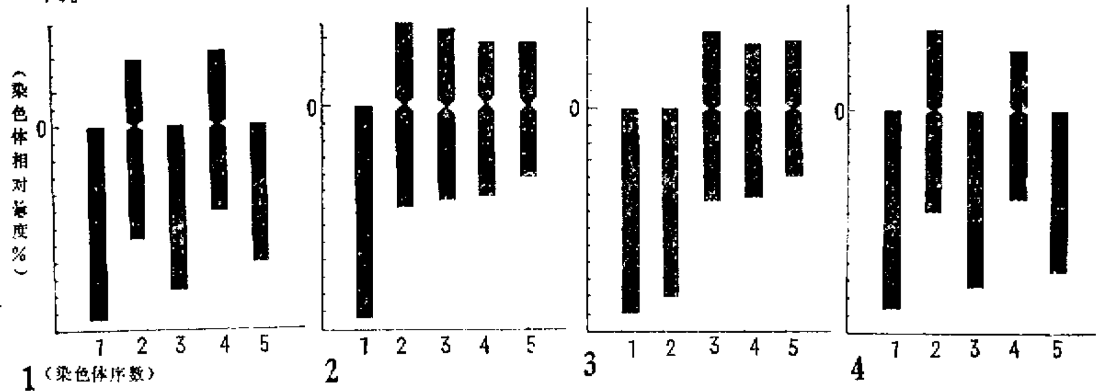
以上资料表明，格氏线虫（NC513和85011），毛蚊线虫和苹果蠹蛾线虫的染色体众数都是 $2n=10$(♀)，$2n=9$(♂)，减数分裂中期 I 的二价体数目都是 $N=5$（♀）。这几种线虫的染色体组型均可分为A、B两组，如表 3 及图 I。

A组：

雌、雄性格氏线虫（NC 513 和85011）都有两对（第2和第4对）中部着丝粒染色体。它们之中都是第2对染色体相对长度较大，与第4对染色体容易区别。

雌性苹果蠹蛾线虫有四对（第2、3、4、5对）中部着丝粒染色体，其中第2、3、4对染色体相对长度差异较大，彼此可以区分，第4对与第5对染色体相对长度较为接近，难以区别。雄性苹果蠹蛾线虫第4对染色体只有1条，其余染色体均与雌性相同。

雌性毛蚊线虫有三对（第3、4、5对）中部着丝粒染色体，这三对染色体相对长度差异都较大容易区别。雄性毛蚊线虫第4对染色体只有1条，其余染色体均与雌性相同。



图Ⅱ 新线虫属三个种染色体模式组型图

1.格氏线虫(NC513)染色体模式组型图 2.苹果蠹蛾线虫(DD—136)染色体模式组型图

3.毛蚊线虫染色体模式组型图 4.格氏线虫(85011)染色体模式组型图

B组：

雌性格氏线虫(NC513和85011)都有三对（第1、3、5对）端部着丝粒染色体，其中第1对染色体的相对长度在整个细胞中显著大于其它各对染色体，在显微镜下容易辨认，其余两对染色体相对长度也差异较大，可以区分；雄性格氏线虫(NC513和85011)第1对染色体只有1条，其余染色体均与雌性相同。

雌、雄性苹果蠹蛾线虫都有1对（第1对）端部着丝粒染色体，为整个细胞中显著最大的染色体。

雌、雄性毛蚊线虫都只有2对（第1、2对）端部着丝粒染色体，第1对为整个细胞中显著最大的染色体，与第2对容易区分。

以上各种线虫的染色体模式组型图见图Ⅱ 1～4。

讨 论

根据观察，这几种线虫的染色体数目均为2n=10(♀)，2n=9(♂)，n=5或n=4。这与Poinar (1967) 观察苹果蠹蛾线虫 (DD—136)的染色体数目相同。它们的性别

决定机制都属于XX-XO型。其染色体相对长度都较为接近，这些都表明它们之间有较近的亲缘关系。其中从国外引进的格氏线虫(NC513)和在我国采到的格氏线虫(85011)的核型基本一致，因而可以认为，它们都是属于同一个种的不同品系。格氏线虫(NC513和85011)的核型均为 $2n=4m+6t$(♀)，$2n=4m+5t$(♂) 苹果蠹蛾线虫的核型为 $2n=8m+2t$(♀)，$2n=7m+2t$(♂)，毛蚊线虫的核型为 $2n=6m+4t$(♀)，$2n=5m+4t$(♂)，彼此相差较大，由此可见，它们都已成为三个独立的物种，这与形态分类得出的结论是一致的。

在这几种雌性线虫中，格氏线虫(NC513和85011)都具有三对端部着丝粒染色体和两对中部着丝粒染色体，毛蚊线虫具体有两对端部着丝粒染色体和三对中部着丝粒染色体，苹果蠹蛾线虫(DD—136)只有一对端部着丝粒染色体和四对中部着丝粒染色体。根据动物中具有较多的端部着丝粒染色体，较少的中部着丝粒染色体为原始类型；而具有较少的端部着丝粒染色体，较多的中部着丝粒染色体为特化类型的论点，因此，我们认为这三种线虫的核型演化关系可能是：格氏线虫的核型与其线虫祖先的“原始核型”最为接近，然后在格氏线虫祖先的核型中，雌虫有2条端部着丝粒染色体，雄虫有1条端部着丝粒染色体通过臂间倒位，形成毛蚊线虫的核型，以后再在毛蚊线虫祖先的核型中，又有2条端部着丝粒染色体通过臂间倒位，从而形成苹果蠹蛾线虫的核型。

从形态分类学上来看，这几种线虫都可以用其感染期线虫长度和排泄孔位置来区分。根据Poinar (1979) 的检索表，格氏线虫的感染期线虫的长度为864～1448微米，毛蚊线虫的感染期线虫长度为600～850微米*，而苹果蠹蛾线虫的感染期线虫长度为425～700微米。可见，它们的感染期线虫的长度有由大向小发展的趋势，这与它们的核型演化过程是一致的。

综上述我们初步认为，在这几种线虫的寄生演化过程中，格氏线虫是较原始的种类，苹果蠹蛾线虫是较特化的类型，而毛蚊线虫则是介两者之间。至于这种解释是否符合实际，有待进一步研究。

参 考 文 献

Levan. A. K. Freday and A. A. Sandberg, (1964) Nomenclature for centromeric position chromosome. *Hereditas*, 52(2): 201—220

Poinar, G. O., Jr. (1967) Description and taxonomic position of the DD—136 nematodes (Steinernematidae, Rhabditoidea) and its relationship to *Neoaplectana carpocapsae* Weiser. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 34 (2): 199—209

Poinar, G. O, Jr. (1979) *Nematodes for Biological Control of Insects*. Boca Raton, Fla., CRC Press, 277p.

Poinar, G. O. Jr. (1985) *Neoaplectana intermedia* n. sp. (Steinernematidae: Nematoda) from South Carolina. *Revue Nematol.*, 8 (4): 321—327

Steiner. G., (1929) *Neoaplectana glaseri*, n. g. n. sp. (Oxyuridae) a new nemic parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). *J. Wash. Acad. Sci.*, 19: 436—439

* Poinar (1985) 对毛蚊线虫的感染期线虫长度改为700～1000微米。

COMPARATIVE STUDIES ON THE KARYOTYPES OF THREE SPECIES OF NEMATODES IN THE GENUS *NEOAPLECTANA*

Wang Guohan

(South China Agricultural University)

Luo Junlie　Wang Zhengsun

(Guangzhou Teachers College)

This paper presents comparative studies of the karyotypes of three species of *Neoaplectana* nematodes. The karyotypes of the gonadal cells and the embryonic cells of *N. glaseri* (NC513, 85011), *N. carpocapsae* (DD—136) and *N. bibionis* were studied. Slides were made by the squash technique with orcein staining. The results obtained from this study indicate that three species of nematodes show a 2N condition of nine chromosomes for the males, ten for the females, but they are different in karyotype from one species to another.

(The karyotype formulae:)

N. glaseri (NC513, 85011) 2n = 4m + 6t(♀)　2n = 4m + 5t(♂)

N. carpocapsae (DD—136) 2n = 8m + 2t(♀)　2n = 7m + 2t(♂)

N. bibionis 2n = 6m + 4t(♀)　2n = 5m + 4t(♂)

In the last part of this paper, we compared and analyzed the karyotypes of three species and discussed the evolutionary relationship of their karyotypes.

Key words: Karotype, *Neoaplectana glaseri*, *Neoaplectana carpocapsae* (DD—136), *Neoaplectana bibionis*